Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Rostock.
Direktor: Professor Dr. Keeser.

Über die Wirkung von Calcium- und Magnesiumchlorid auf Trypsin und Emulsin.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von

Carl Zeumer

aus Gerbstedt.

1931.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Rostock.
Direktor: Professor Dr. Keeser.

Über die Wirkung von Calcium- und Magnesiumchlorid auf Trypsin und Emulsin.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von

Carl Zeumer

aus Gerbstedt.

1931.

Referent:

Prof. Dr. Keeser.

Ein sehr interessantes, aber seinem Wesen nach noch wenig geklärtes Gebiet unserer Kenntnisse über die Wirkungen der Arzneimittel stellt ihr Einfluss auf die Tätigkeit der Fermente dar. Die Untersuchung von Fragen, die in dieses Gebiet gehören, erscheint nicht nur deswegen so wichtig, weil die Fermente eine überragende Bedeutung für den Ablauf unseres Stoffwechsels besitzen, sondern auch deswegen, weil die Tätigkeit der Fermente nach dem Ergebnis von bereits vorliegenden Beobachtungen nicht nur von verschiedenen Arzneimitteln verschieden, sondern auch u. U. von demselben Arzneimittel- abhängig von der Konzentration dieses Arzneimittels -in verschiedenartiger Weise beeinflusst werden kann. Die nachstehend geschilderten Untersuchungen stellen einen Beitrag zu unserer Kenntnis der Beziehungen zwischen Fermentwirkung und Arzneimitteln dar.

Zunächst wurde der Einfluss von CaCl 2 und MgCl 2 auf die Trypsinspaltung der Gelatine untersucht und zwar besonders unter Berücksichtigung der Frage, ob sich ein Antagonismus zwischen diesen beiden Salzen feststellen lässt. In der Literatur liegt eine grosse Reihe von Mitteilungen über den Einfluss von Neutralsalzen auf Fermentwirkungen vor. Die älteren Arbeiten, die sich mit dieser Frage befassen, haben allerdings einen geringen Wert, da niemals die Wasserstoffionenkonzentration in den Versuchsflüssigkeiten berücksichtigt wurde. Über Salzwirkungen auf Trypsin finden sich bei älteren Autoren mehrere Angaben, meist werden Calciumsalze als besonders wirksam bezeichnet.

P o d o l i n s k i 1), fand Förderung der Trypsinwirkung durch alle Neutralsalze. D e l e z e n n e 2), berichtet über Aktivierung des unwirksamen tryptischen Fermentes durch Erdalkalien, besonders durch Calcium. Seine Angaben wurden verschiedentlich bestätigt, so von Z u n z 3), M e y e r 4), W o h l g e m u t h 5), F r o u i n und C o m p t o n 6), M e l l a n b y und W o o l l e y 7); W a l d s c h m i d t - L e i t z 8), konnte eine aktivierende Wirkung von Calcium auf frisches, tryptisch unwirksames Drüsen-

material nicht beobachten; hingegen fand er die Wirksamkeit des mittels Enterokinase aktivierten Enzyms sowohl bei alkalischer als auch bei saurer Reaktion nach Zusatz von Calcium deutlich herabgesetzt. K u d o 9), berichtet über Hemmung der tryptischen Wirksamkeit durch Neutralsalze.

Zusammenfassend können wir sagen, dass die von den oben angegebenen Autoren ausgeführten Untersuchungen recht uneinheitliche Resultate ergeben, was sich wohl dadurch erklären lässt, dass die Versuche z.T. ohne oder mit sehr schwacher Pufferung der Versuchsflüssigkeiten ausgeführt wurden.

In der vorliegenden Arbeit sollte nun geprüft werden, ob Calcium und Magnesium einen Einfluss auf den Spaltungsverlauf der Gelatine durch Trypsin haben, und ob sich eine verschiedenartige, eventl. antagonistische Beeinflussung der Spaltung durch die genannten Erdalkalien würde nachweisen lassen.

Experimentelles.

Als Ferment diente käufliches Trypsin (Trypsin. purissim. Witte), und zwar wurde für die einzelnen Ansätze je 1,0 ccm einer Trypsinlösung verwandt, die 0,3 Trypsin in 10,0 ccm aqua dest. enthielt. Als Substrat wurde Gelatine benutzt. Zur Herstellung der Ansätze wurde 1,0 g Gelatine in 20,0 ccm aqua dest. unter Erwärmen gelöst und dann durch Zusatz von etwa 4 Tropfen n NaOH schwach alkalisch gemacht. Diese Gelatinelösung färbte Phenolphthalein eben schwach rosa. Zur Pufferung diente ein 0,2 m Boratpuffer (Sörensensches Borat-HCl-Gemisch nach Walbum von pH = 8,09 (30°)), von dem 20,0 ccm zu 20,0 ccm der schwach alkalischen Gelatinelösung zugesetzt wurden. Die jetzt zum Ansatz fertige Gelatinelösung hatte, gemesssen nach der kolorimetrischen Methode von Autenrieth und Königsberger, einen pH von 8,0 - 8,1.

Der Spaltungsverlauf wurde kontrolliert durch die Titration der freiwerdenden Aminogruppen nach L i n d e r s t r ö m - L a n g, 10) und zwar wurde 1,0 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit in 20,0 ccm Aceton mit n/10

alkoholischer Salzsäure titriert. Als Indikator diente Naphthylrot (Benzol-Azo-α-naphthylamin). Die Genauigkeit der Titration beträgt etwa 0,02 ccm n/10 HCl.

Die Versuchsanordnung gestaltete sich demnach folgendermassen: Je 10,0 ccm der beschriebenen, gepufferten Gelatinelösung von pH = 8,0 - 8,1 wurden in 3 Glaszylinder mit eingeschliffenem Stopfen gegeben; darauf wurden CaCl 2 und MgCl 2 zugesetzt und zwar zu jedem Ansatz je 1,0 ccm der verschiedenen Lösungen (1 m, 0,1 m, 0,001 m), sodass die Konzentrationen an CaCl 2 bezw. MgCl 2 in den Ansätzen zwischen 0,83 - 0,00083 m betrugen. In den ersten Zylinder wurden 1,0 ccm der CaCl 2-Lösung, in den zweiten Zylinder 1,0 ccm MgCl 2 - Lösung, in den dritten Zylinder, der als Kontrolle diente, 1,0 ccm Aqu. dest. hinzugegeben. In jeden Zylinder fügten wir unmittelbar vor der Anfangstitration 1,0 ccm der Trypsinlösung und schüttelten dann den Zylinderinhalt kräftig durch. Die gleich danach entnommenen 1,0 ccm wurden, wie beschrieben, titriert, während die Zylinder in den Brutschrank (36°) eingestellt wurden. Die einzelnen Abnahmen erfolgten meist nach $\frac{1}{2}$, $1\frac{1}{2}$, $2\frac{1}{2}$ und 20 Stunden; ihre Werte sind aus den folgenden Tabellen ersichtlich. In diesen Tabellen werden die bei den einzelnen Titrationen verbrauchten n/10 HCl-Mengen angegeben; ausser dem sind die Zunahmen an n/10 HCl in ccm (1,0 ccm n/10 HCl entspricht 1,4 mg NH_2-N) eingetragen.

Versuch 1.

Zusatz von 1,0 ccm einer 1 m Lösung von CaCl 2 oder MgCl 2 zu 10,0 ccm Gelatinelösung von pH = 8,01, zu der dann 1,0 ccm Trypsinlösung (0,3 g Tr. auf 10,0 ccm Aq. dest). zugesetzt wurde. Die Konzentration an CaCl 2 bezw. MgCl 2 betrug also 0,083 m. Ansatz 1 stellt jeweils die mit CaCl 2, Ansatz 2 die mit MgCl 2 und Ansatz 3 die mit Aq. dest. angesetzte Lösung dar.

Zeit	ccm verbrauchte n/10 HCl			Zunahme in ccm n/10 HCl		
	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3
0 Min.	0,72	0,69	0,67	–	–	–
30 "	0,70	0,69	0,85	–	–	0,18
1½ Std.	0,71	0,75	0,91	–	0,06	0,24
5 "	0,71	0,75	0,94	–	0,06	0,27
20 "	0,72	0,75	1,07	–	0,06	0,40

Zeit	ccm verbrauchte n/10 HCl			Zunahme in ccm n/10 HCl		
	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3
0 Min.	0,71	0,70	0,67	–	–	–
30 "	0,73	0,71	0,89	0,02	0,01	0,22
1½ Std.	0,73	0,76	0,91	0,02	0,06	0,24
5 "	0,73	0,78	0,99	0,02	0,08	0,32
20 "	0,73	0,78	1,09	0,02	0,08	0,42

Es zeigte sich also in diesem Versuch, dass die Zugabe von 1,0 ccm m $CaCl_2$ oder m $MgCl_2$ die Gelatinespaltung durch Trypsin fast völlig aufhob. Bei $MgCl_2$ ist noch eine geringe Spaltungswirkung zu beobachten. Es muss hier noch bemerkt werden, dass nach dem Zusatz des Trypsins bei Ansatz 1 und 2 eine leichte Flockung auftrat.

Versuch 2.

Zusatz von 1,0 ccm einer m/10 Lösung von $CaCl_2$ oder $MgCl_2$ zu 10,0 ccm Gelatinelösung von pH = 8,01, zu der dann 1,0 ccm Trypsinlösung (0,3 g auf 10,0 ccm Aqu. dest.) gegeben wurden. Die Konzentration an $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$ betrug also 0,0083 m.

Zeit	ccm verbrauchte n/10 HCl			Zunahme in ccm n/10 HCl		
	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3
0 Min.	0,69	0,64	0,64	–	–	–
30 "	0,82	0,83	0,76	0,13	0,19	0,12
2½ Std.	0,85	0,92	0,93	0,16	0,28	0,29
3 "	0,85	0,92	0,93	0,16	0,28	0,29
6 "	0,93	0,93	1,01	0,24	0,29	0,37
20 "	0,93	0,98	1,06	0,24	0,34	0,42
0 Min.	0,67	0,66	0,68	–	–	–
30 "	0,81	0,84	0,80	0,14	0,18	0,12
2½ Std.	0,85	0,91	0,95	0,18	0,25	0,27
3 "	0,85	0,92	0,95	0,18	0,26	0,27
6 "	0,91	0,93	1,02	0,24	0,27	0,34
20 "	0,94	0,99	1,08	0,27	0,33	0,40

Auch bei dieser Konzentration an $CaCl_2$ und $MgCl_2$ fand sich eine Hemmung der Gelatinespaltung durch Trypsin, die allerdings erst bei den späteren Abnahmen nach 2½, 3, 6 und 20 Stunden deutlich wurde. Der hemmende Einfluss des $CaCl_2$ scheint etwas stärker zu sein als der des $MgCl_2$.

Wie bei Versuch 1 stellten wir auch hier nach Zusatz des Trypsins eine Eiweissflockung fest.

Versuch 3.

Zusatz von 1,0 ccm einer m/100 Lösung von $CaCl_2$ oder $MgCl_2$ zu 10,0 ccm Gelatinelösung von pH = 8,01, zu der dann 1,0 ccm Trypsinlösung (0,3 g Trypsin auf 10,0 ccm Aqu. dest.) gegeben wurden. Die Konzentration an $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$ betrug also 0,00083 m.

Zeit	ccm verbrauchte n/10 HCl			Zunahme in ccm n/10 HCl		
	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3
0 Min.	0,69	0,69	0,70	–	–	–
30 "	0,80	0,88	0,87	0,11	0,19	0,17
1½ Std.	0,88	0,88	0,87	0,19	0,19	0,17
2½ "	0,94	0,98	0,89	0,25	0,29	0,19
5½ "	0,98	1,00	1,00	0,29	0,31	0,30
20 "	1,01	1,01	1,05	0,32	0,32	0,35
0 Min.	0,68	0,68	0,69	–	–	–
30 "	0,79	0,87	0,86	0,11	0,19	0,17
1½ Std.	0,87	0,88	0,87	0,19	0,20	0,18
2½ "	0,94	0,97	0,89	0,26	0,29	0,20
5½ "	0,98	1,00	1,01	0,30	0,32	0,32
20 "	1,01	1,01	1,05	0,33	0,33	0,36

Bei dieser Konzentration an $CaCl_2$ und $MgCl_2$ scheinen beide Salze nach 1½ und 2½ Stunden zunächst etwas zu beschleunigen, während nach 5½ und 20 Stunden eine leichte Hemmung durch beide Salze auftritt.

Eiweissflockung konnte nicht mehr beobachtet werden.

Versuch 4.

Zusatz von 1,0 ccm einer m/500 Lösung von $CaCl_2$ oder $MgCl_2$ zu 10,0 ccm Gelatinelösung von pH = 8,01, zu der 1,0 ccm Trypsinlösung (0,3 g Trypsin auf 10,0 ccm Aqu. dest.) hinzugegeben wurden. Die Konzentration an $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$ betrug also 0,000166 m.

Zeit	ccm verbrauchte n/10 HCl			Zunahme in ccm n/10 HCl		
	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3
0 Min.	0,71	0,71	0,67	–	–	–
30 "	0,82	0,87	0,87	0,11	0,16	0,20
1½ Std.	0,95	0,95	0,92	0,24	0,24	0,25
4½ "	1,01	1,02	0,97	0,30	0,31	0,30
20 "	1,05	1,08	1,02	0,34	0,37	0,35
0 Min.	0,69	0,69	0,67	–	–	–
30 "	0,82	0,86	0,87	0,13	0,17	0,20
1½ Std.	0,93	0,92	0,92	0,24	0,23	0,25
4½ "	0,99	1,00	0,98	0,30	0,31	0,31
20 "	1,04	1,06	1,03	0,35	0,37	0,36

Es zeigte sich bei den angewandten Konzentrationen an $CaCl_2$ und $MgCl_2$ bei der Abnahme nach ½ Stunde eine Hemmung der Trypsinwirkung durch $CaCl_2$ und $MgCl_2$, während später etwa gleicher Spaltungsverlauf wie in der Kontrolle zu beobachten war.

Versuch 5.

Zusatz von 1,0 ccm einer m/1000 Lösung von $CaCl_2$ oder $MgCl_2$ zu 10,0 ccm Gelatinelösung von pH = 8,01, zu der dann 1,0 ccm Trypsinlösung (0,3 g Trypsin auf 10,0 ccm Aqu. dest.) gegeben wurden. Die Konzentration an $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$ betrug also 0,000083 m.

Zeit	ccm verbrauchte n/10 HCl			Zunahme in ccm n/10 HCl		
	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3
0 Min.	0,69	0,69	0,69	—	—	—
30 "	0,78	0,79	0,85	0,09	0,10	0,16
1½ Std.	0,88	0,89	0,86	0,19	0,20	0,17
2½ "	0,99	0,96	0,94	0,30	0,27	0,25
20 "	1,03	1,05	1,02	0,34	0,36	0,33
0 Min.	0,67	0,67	0,67	—	—	—
30 "	0,77	0,79	0,85	0,10	0,12	0,18
1½ Std.	0,86	0,88	0,87	0,19	0,21	0,20
2½ "	0,99	0,93	0,93	0,32	0,26	0,26
20 "	1,02	1,04	1,02	0,35	0,37	0,35

Hier zeigt sich nach ½ Stunde eine deutliche Hemmung durch $CaCl_2$ und $MgCl_2$; nach 1½ und 2½ Stunden findet sich eine leichte Beschleunigung des Spaltungsvorganges, die sich auch nach 20 Stunden, besonders bei $MgCl_2$ feststellen lässt.

Zusammenfassung.

Durch die Versuche konnte gezeigt werden, dass Calcium- und Magnesiumchlorid in einer Konzentration von 0,083 m die Spaltung der Gelatine durch Trypsin fast völlig aufhoben, in einer Konzentration von 0,0083m ebenfalls deutliche Hemmung vorhanden war, die allerdings bei $CaCl_2$ ausgesprochener zu sein schien. Bei einer Konzentration von 0,00083m beobachteten wir zunächst bei beiden Salzen eine geringe Beschleunigung, die dann später in eine leichte Hemmung, aber nur für $CaCl_2$ umschlug. Bei einer Konzentration von 0,000083 m wurde zunächst eine deutliche Hemmung durch $CaCl_2$ und $MgCl_2$ beobachtet, während bei den später entnommenen Proben eine fördernde Wirkung festgestellt wurde. Versuch 4 mit einer Konzentration von 0,000166 m liess bei der ersten Abnahme eine

Hemmung durch $CaCl_2$ und $MgCl_2$ erkennen, während später der Spaltungsverlauf bei beiden Salzen annähernd ebenso wie in der mit Aqu. dest. angesetzten Kontrolle verlief. Alle Versuchsreihen wurden wiederholt angestellt.

II.

Im zweiten Teil dieser Arbeit prüften wir, welchen Einfluss Calcium und Magnesium auf den Spaltungsverlauf des Salizins durch Emulsin ausüben und ob sich auch hier eine verschiedenartige, evtl. antagonistische Beeinflussung der Spaltung feststellen lässt.

Emulsin, früher auch Synaptase genannt, ist ein glykosidspaltendes Ferment, welches ein Gemisch verschiedener Fermente darstellt, deren gemeinsame Wirkung sehr kompliziert ist. Das Emulsin, das Liebig und Wöhler nur in den Mandeln auffinden konnten, ist sowohl in den höheren Pflanzen als auch unter den Kryptogamen weit verbreitet; doch scheinen die Emulsine dieser verschiedenen Pflanzengruppen verschieden zu sein (H e r i s s e y 11)). Emulsin findet sich im Organismus von höheren Tieren nicht, dagegen ist es bei wirbellosen recht verbreitet, vor allem aber im Pflanzenreich, hier besonders in den Mandeln, aus denen man sehr wirksame Fermentlösungen gewinnen kann (W o h l g e m u t h 12)). R o s e n t h a l e r 13) fand, dass das Emulsin mindestens zwei Gruppen von Katalysatoren enthält, ein spaltendes und ein synthetisch wirkendes Emulsin. Trocken kann man dieses Ferment längere Zeit auf 100° erhitzen, ohne dass es zerstört wird (B u l l 14)). Das pH-Optimum für die Wirkung des Emulsins liegt bei schwach saurer Reaktion, schwankt nach W i l l s t ä t t e r und C z a n y i 15) für die verschiedenen Glycoside zwischen pH = 6,0 - 4,4 und beträgt 4,85 nach V u l q u i n 16).

Die Fermentgruppe vom Typus des Emulsin spaltet ausser mehreren höheren Zuckern wie Raffinose und Stacchyose eine Reihe von in der Natur vorkommenden Glycosiden und zwar, was besonders interessant ist, nur die β - Glycoside des gärfähigen Zuckers, während die Maltase ausschliesslich α - Methylglycosid spaltet. Alle durch Emulsin spaltbaren

Glycoside sind linksdrehend, demnach muss sich auch ihre Spaltung durch das Schwächerwerden bezw. Verschwinden (bezw. durch das Auftreten einer Rechtsdrehung) bemerkbar machen. Der Grad der Rechtsdrehung wird ganz davon abhängen, wieviel Traubenzucker durch das Emulsin in Freiheit gesetzt wird. (W o h l g e m u t h 17)).

Über die Einwirkung von Neutralsalzen auf Fermente liegen in der Literatur sehr viele Angaben vor, bei deren Durchsicht wir speziell über den Einfluss von solchen auf die Glycosidspaltung durch Emulsin nichts angegeben fanden. Umso mehr interessierte es, besonders im Hinblick auf Untersuchungen über solche Einflüsse auf andere Fermente, nun auch hier festzustellen, ob Calcium- und Magnesiumsalze die Salicinspaltung durch Emulsin beeinflussen. Calcium und Magnesium wurden deshalb gewählt, weil aus der Literatur hervorzugehen scheint, dass von allen Neutralsalzen den Salzen gerade dieser Metalle am ehesten ein besonderer, oftmals antagonistischer Einfluss auf den Ablauf von fermentativen Vorgängen zukommt; vergl. z. B. die Angaben im ersten Teil dieser Arbeit über Trypsinspaltung, dann W a l d s c h m i d t - L e i t z und S c h ä f f n e r 18), ferner D e r n b y 19), O e l k e r s 20) über den Einfluss auf die Erepsinspaltung, sowie N e l l e 21) und M e y e r 22) mit ausführlichen Literaturangaben über die Einwirkung von Calcium- und Magnesiumsalzen auf Phosphatase und Diastase.

Als Ferment diente käufliches Emulsin von der Firma E. Merck und als Substrat Salicin von derselben Firma. Die Untersuchung der Emulsinwirkung führten wir nach der von H e l f e r i c h 23) vorgeschlagenen polarimetrischen Methode durch. Ihre Ausführung war folgende: 5,0 g Salicin wurden in einem Messkölbchen in ca. 120,0 ccm Aqu. dest. warm gelöst und auf Zimmertemperatur abgekühlt. Sodann wurden 25,0 ccm n/10 Na-Acetat und 20,0 ccm n/10 Essigsäure als Pufferlösung zu der Salicinlösung zugegeben und nach dem Abkühlen bei 0° bis zu 200,0 ccm aufgefüllt. Die H-Ionenkonzentration dieser Lösung betrug $1{,}7 \cdot 10^{-5}$, umgerechnet pH = 4,77. Zur Bestimmung wurden 0,2 g Emulsin in 40,0 ccm Aqu. dest. gelöst und nach 10 Minuten mit 160,0 ccm obiger Salicinlösung versetzt.

Bevor wir jedoch auf die Schilderung der Versuche eingehen, scheint es uns wichtig, einige Bemerkungen über die Einflüsse, durch die das Drehungsvermögen optisch aktiver Substanzen geändert werden kann, vorauszuschicken:

Bei der Beantwortung der Frage nach den Ursachen, durch die das Drehungsvermögen optisch aktiver Substanzen beeinflusst wird, ist zunächst zu berücksichtigen, dass hierbei alle bei Lösungen überhaupt möglichen Vorgänge (elektrolytische Dissoziation, Zerfall oder Bildung von Molekülaggregaten, Hydrolyse u.a.) eine Rolle spielen können. Darauf ist es zurückzuführen, dass äquimolare Lösungen von chinasaurem Calcium und chinasaurem Magnesium eine verschieden starke Drehung des Lichtes bewirken, und dass äpfelsaures Lithium und äpfelsaures Kalium bezw. Natrium sich durch die Stärke ihrer optischen Aktivität unterscheiden. (L a n d o l t 24)). Auf einem Rückgang der elektrolytischen Dissoziation beruhen meist auch die Änderungen, die das Drehvermögen mancher optisch aktiver Substanzen durch Zufügen von Salzen erleidet. (L a n d o l t l.c.25); W a l d e n 26)). Je nach der Natur der beiden gelösten Stoffe (der optisch aktiven Substanz und des optisch inaktiven Neutralsalzes) beruhen die auftretenden Erhöhungen oder Erniedrigungen des Drehungsvermögens auf Änderungen des chemischen Gleichgewichts, des Dissoziationsgrades oder auf dem Entstehen von Verbindungen (L a n d o l t l.c.27)).

Wir selbst führten folgende Untersuchungen aus, deren Werte bei 20° in einem 2-dm langen Rohr abgelesen wurden.

1. 15 ccm 5 %ige Nacotin. hydrochloric. (in Aq. dest. gelöst)	Stärke der Drehung
a) + 5,0 ccm Aq. dest.	+ 3,16°
b) + 5,0 ccm m CaCl 2	+ 3,40°
c) + 5,0 ccm m MgCl 2	+ 3,40°

2. 15,0 ccm 1%ige Cocain hydrochloric. (in Urethan gelöst)	Stärke der Drehung
a) + 5,0 ccm Aq. dest.	- 0,59°
b) + 5,0 ccm m $CaCl_2$	- 0,45°
c) + 5,0 ccm m $MgCl_2$	- 0,45°

3. 15,0 ccm 5 %ig. d-Weinsäure (in Aq. dest. gel.)	Stärke der Drehung
a) + 5,0 ccm Aq. dest.	+ 1,08°
b) + 5,0 ccm m $CaCl_2$	+ 0,73°
c) + 5,0 ccm m $MgCl_2$	+ 1,04°

4. 15,0 ccm 20%ig. d-Weinsäure (in Aq. dest. gel.)	Stärke der Drehung
a) + 5,0 ccm Aq. dest.	+ 3,43°
b) + 5,0 ccm m $CaCl_2$	+ 2,25°
c) + 5,0 ccm m $MgCl_2$	+ 3,40°

5. 15,0 ccm 5%ig. l-Weinsäure in Aq. dest. gel.)	Stärke der Drehung
a) + 5,0 ccm Aq. dest.	- 1.09°
b) + 5,0 ccm m $CaCl_2$	- 0,68°
c) + 5,0 ccm m $MgCl_2$	- 1,09°

6. 15,0 ccm 1%ig. Chinin. sulfuric. (i. Urethan gel.	Stärke der Drehung
a) + 5,0 ccm Aq. dest.	- 2,57°
b) + 5,0 ccm m $CaCl_2$	- 2,60°
c) + 5,0 ccm m $MgCl_2$	- 2,43°

7. 15,0 ccm 1 %ig. Cinchonin. sulfur. (in Urethan gel.)	Stärke der Drehung
a) + 5,0 ccm Aq. dest.	+ 2,53°
b) + 5,0 ccm m $CaCl_2$	+ 2,43°
c) + 5,0 ccm m $MgCl_2$	+ 2,43°

8. 15,0 ccm 1 %igCinchonidin. sulfur. (in Urethan gelöst)	Stärke der Drehung
a) + 5,0 ccm Aq. dest.	- 1,73°
b) + 5,0 ccm m $CaCl_2$	- 1,60°
c) + 5,0 ccm m $MgCl_2$	- 1,60°

Die Ergebnisse dieser Versuche erscheinen in verschiedener Hinsicht bemerkenswert: Bekanntlich unterscheiden sich Calcium und Magnesium in charakteristischer Weise durch die Löslichkeit ihrer Sulfate. Das Drehungsvermögen des in kaltem Wasser schwer löslichen Cinchonin. sulfuric. und dasjenige des in 100 Teilen Wasser löslichen Cinchonidin. sulfuric. werden durch den Zusatz von $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$ in qualitativ und quantitativ gleicher Weise im Sinne einer Erniedrigung beeinflusst; anscheinend ist in diesem Fall die Affinität des Alkaloids zum Sulfat-Ion grösser als die des Ca bezw. Mg, so dass der Zusatz von $CaCl_2$ bzw. $MgCl_2$ lediglich eine Zurückdrängung der Dissoziation der genannten Alkaloidsalze bewirkt. Bei Zusatz von $CaCl_2$ zu dem in 800 Teilen Wasser löslichen Chinin. sulfuric. verursacht $CaCl_2$ eine Zunahme der Drehungsgrösse; dies spricht dafür, dass hier ein Austausch der Anionen von Chinin und Calcium stattfindet und auf diese Weise das bereits in 32 Teilen Wasser lösliche Chininchlorid entsteht. Der Zusatz von $MgCl_2$ zu Chinin. sulfuric. dagegen bewirkt eine Verringerung der Drehungsgrösse, also lediglich eine Herabsetzung der Dissoziation, wobei offenbar ein Austausch der Anionen von Chinin und Mg nicht stattfindet. Dass im übrigen bei dem Zusatz eines Neutralsalzes zu einer optisch aktiven Substanz nicht stets die Drehungsgrösse herabgesetzt wird. (vergl.

Cocain), zeigen die mit Narcotin erhaltenen Befunde. Ähnliche Verhältnisse lassen sich an folgendem Beispiel zeigen: Löst man 10,0 g neutrales Kaliumtartrat in 100,0 ccm Aq. dest., so beträgt dessen Drehung α D 26,99°; bei Zusatz von 25,0 g KCl wird sie erhöht (28,89°), bei einem solchen von 25,0 g NaCl erniedrigt (22,84°). Die Chloride der Erdalkalimetalle erniedrigen die Drehung von Rohrzucker; ein Teil Rohrzucker , gelöst in 3 Teilen Wasser, zeigt z.B. eine Drehung von 66,60° bei Zusatz von $CaCl_2$ eine solche von 63,52°, bei Zusatz einer äquimolaren Menge von $MgCl_2$ eine solche von 62,17°; 5- und 10 %ige Lösungen von Dextrose zeigen bei Zusatz von $CaCl_2$ in 10 %iger Konzentration eine Erniedrigung, in etwa 20 %iger Konzentration eine Erhöhung des Drehvermögens; d- camphersaures Calcium (10 %) bewirkt eine Drehung von + 17,69°, d-camphersaures Magnesium (10 %) eine solche von + 12,21° .

Bei l- und d-Weinsäure bewirkt der Zusatz von $CaCl_2$ eine wesentlich stärkere Beeinflussung der Drehungsgrösse, als es der von MgCl 2 tut. Wenn man aus derartigen Unterschieden bei Elektrolyten Schlüsse ziehen will, so ist es erforderlich, dass nicht nur mit äquimolaren Lösungen gearbeitet wird, sondern es muss auch sorgfältig darauf geachtet werden, dass die (H^+) in den zu vergleichenden Lösungen gleich ist; denn wie alle physikalisch-chemischen Eigenschaften, so ist auch das optische Drehungsvermögen eine Funktion der Ionisation, somit des pH. (V l e s und V e l l i n g e r 28). Die jeweilige spezifische Drehung eines Ampholyten stellt die Summe der Drehungen der Ionen und der nicht dissoziierten Moleküle dar. Dies gilt, wie gesagt, nur für Elektro- bezw. Ampholyte, nicht dagegen für Anelektrolyte; so ist z.B. die spez. Drehung der Glucose vom pH unabhängig (L i q u i e r 29) und V e l l i n g e r 30).

Den Einfluss von Neutralsalzen auf die Drehung von Tartraten untersuchten in neuerer Zeit, auf den Angaben der obengenannten Autoren sowie den Untersuchungen von L o n g 31), S t u b b s 32), P a t t e r s o n und A n d e r s o n 33) sowie von C l o u g h 34) fussend, besonders d e M a l l e m a n n 35), der fand, dass Dispersion und Rotationskraft gleichartige systematische Verän-

derungen erleiden, und D a r m o i s 36). Letzterer beobachtete, dass sich neutrale Tartrate besonders gut zum Studium des Salzeffektes auf die Rotation eignen, und fand u. a., dass der Zusatz von $MgCl_2$ oder $CaCl_2$ zu Natriumtartrat die Drehungsgrösse herabsetzt, während sie bei einem solchen von LiCl ansteigt. Die beobachteten Drehungsänderungen führt D a r m o i s darauf zurück, dass die optisch aktiven Substanzen sich assoziieren; diese "Assoziation" ist nach D a r m o i s nicht identisch mit dem Entstehen von undissoziierten Molekülen, sondern stellt eine Zwischenstufe dar, wie sie auch von B j e r r u m 37) sowie von v. H a l b a n und E i s e n b r a n d 38) angenommen wird.

Diese kurzen Andeutungen mögen genügen, um zu zeigen, wie schwierig auf der einen Seite die Deutung der Ursachen von Änderungen der Drehung optisch aktiver Substanzen ist, wie aber andererseits mit Sicherheit aus der Tatsache, dass bei einem Versuch eine Änderung der Drehungsgrösse beobachtet wird, geschlossen werden kann, dass die Ursache hierfür in Änderungen der chemischen bezw. physikalischen Zustandsformen der gelösten Stoffe zu erblicken ist.

Experimentelles.

Die Versuchsanordnung gestaltete sich folgendermassen: Der Spaltungsverlauf des Salicins wurde, wie bereits erwähnt, durch die polarimetrische Methode kontrolliert. Zur Verfügung stand ein Polarimeter von Dr. C. Scheibler, Berlin, mit drei 2-dm Röhren. Für jeden Versuch wurden in einem Messzylinder 160,0 ccm der beschriebenen, gepufferten Salicinlösung von pH = 4,77 mit der Emulsinlösung (0,2 g Emulsin auf 40,0 ccm Aq. dest.) gemischt und kräftig durchgeschüttelt. Von dieser für die einzelnen Ansätze nunmehr fertigen Versuchsflüssigkeit wurden je 20,0 ccm in drei Glaszylinder gegeben, von denen der erste, der jeweils zur Kontrolle diente, stets 1,0 ccm Aq. dest., der zweite je 1,0 ccm der verschieden molaren Lösung von $CaCl_2$ (m, 5 m, 0,1 m, 0,01 m, 0,001 m, 0,0001 m), der dritte je 1,0 ccm der verschiedenen Lösungen von $MgCl_2$ (m, 5 m, 0,01 m, 0,001 m, 0,0001 m) enthielt, so dass die Konzentrationen an $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$

in den Ansätzen zwischen 0,238 m bis 0,0000476 m betrugen. Die für die Aufnahme der zu untersuchenden Flüssigkeit bereitgehaltenen 3 Polarimeterröhren fassten je 15,0 ccm Lösung und wurden kurz hintereinander in das Polarimeter eingelegt, so dass die Anfangsdrehung ohne nennenswerten zeitlichen Unterschied abgelesen wurde. Die späteren Ablesungen erfolgten in Zwischenräumen von einer Stunde, die letzte Ablesung nach 20 Stunden. Um die Spaltung zu unterbrechen, wurde von Helfferich der Zusatz von festem Kaliumkarbonat zur Spaltungsflüssigkeit vorgeschlagen. Hierbei beobachteten wir in den Ansätzen mit $CaCl_2$ und $MgCl_2$ durch die Bildung von $CaCO_3$ bezw. $MgCO_3$ eine stark trübende, die Polarisation unmöglich machende Fällung. Wir hätten zwar durch Filtration eine klare und für unsere Methode verwendbare Lösung wieder erhalten können; hiervon nahmen wir aber deshalb Abstand, weil es möglich war, dass durch die Fällung und Filtration der Versuchsflüssigkeit optisch aktive Stoffe und Bestandteile entzogen wurden. Aus diesem Grunde unterblieb der Zusatz von Kaliumkarbonat, und wir verzichteten auf eine Unterbrechung des Spaltungsvorganges, wodurch andererseits die Versuchsanordnung nicht unnötig kompliziert gemacht wurde. Für jeden Versuch wurde die Salicin- und Emulsinlösung in der beschriebenen Weise neu hergestellt.

Da nach Oppenheimer 39) das käufliche Emulsin ein Gemisch mehrerer verschiedener Fermente darstellt, Emulsin auch noch andere Fermente enthält, denen ihrerseits wieder andere Wirkungen auf Glycoside zugeschrieben werden, so kann den im folgenden geschilderten Ergebnissen nur Gültigkeit für das von uns verwandte Emulsinpräparat zugesprochen werden.

Versuch 1.

Zusatz von 1,0 ccm einer 5 m Lösung von $CaCl_2$ oder $MgCl_2$ zu 20,0 ccm der oben beschriebenen, mit Emulsin versetzten Salicinlösung von pH = 4,77. Die Konzentration an $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$ betrug also 0,238 m. Ansatz 1 stellt jeweils die mit Aq. dest. (Kontrolle), Ansatz 2 die mit $CaCl_2$ und Ansatz 3 die mit $MgCl_2$ angesetzte Lösung dar.

Ansatz	Anfangs-drehung	Zunahme d. Drehungswinkels in Graden nach 1 St.	nach 2 St.	nach 3 St.	n. 20 St.
1	– 1,31	1,31	1,48	1,48	2,66
2	– 2,04	1,00	2,38	2,07	3,08
3	– 1,76	0,79	1,89	1,93	2,93
1	– 1,52	0,48	1,69	1,69	2,76
2	– 2,04	1,00	2,07	2,07	3,25
3	– 1,80	0,83	1,97	1,97	3,04

Aus diesem Versuch ergab sich zunächst, dass die Drehung der Salicin-Emulsinlösung sowohl durch $CaCl_2$- wie auch durch $MgCl_2$- Zusatz verstärkt wird, und zwar durch $CaCl_2$ mehr als durch $MgCl_2$, so dass also beide Salze entweder das Emulsin oder das Salicin oder beide Substanzen beeinflussen. Um die hier in Frage kommenden Wirkungen zu klären, lösten wir Emulsin (0,5 %) und Salicin (2,5 %) in destilliertem Wasser - entsprechend den in Versuch 1 zur Verwendung gelangenden Konzentrationen-, fügten zu je 20,0 ccm dieser Lösungen je 1,0 ccm Aqu. dest. oder 1,0 ccm $CaCl_2$- bezw. $MgCl_2$-Lösung in äquimolarer Konzentration und bestimmten die Drehungsgrösse der so erhaltenen Lösung bei 20° in einem 2=dm langen Rohr.

I. Emulsin	Drehg.i. Graden	II. Salizin	Drehg. i.Grad.
+ 1,0 ccm Aqu. dest.	–0,28	+ 1,0 ccm Aqu. dest.	–2,91
+ 1,0 ccm m $CaCl_2$	stk.Trübg	+ 1,0 ccm m $CaCl_2$	–3,05
+ 1,0 ccm m $MgCl_2$	–0,24	+ 1,0 ccm m $MgCl_2$	–3,12
+ 1,0 ccm m/10 $CaCl_2$	–0,31	+ 1,0 ccm m/10 $CaCl_2$	–3,05
+ 1,0 ccm m/10 $MgCl_2$	–0,28	+ 1,0 ccm m/10 $MgCl_2$	–3,05
+ 1,0 ccm m/100 $CaCl_2$	–0,28	+1,0 ccm m/100 $CaCl_2$	–3,26
+ 1,0 ccm m/100 $MgCl_2$	–0,31	+1,0 ccm m/100 $MgCl_2$	–3,19

Hierbei ergab sich, dass $CaCl_2$ und $MgCl_2$ die Drehung von Emulsinlösung in einer von der Konzentration der zugesetzten Salzlösung abhängigen Weise beeinflussen, jedoch sind Grösse und Art der Ausschläge derart, dass sie die in Versuch 1 beobachteten Ausschläge zu erklären nicht imstande sind. Dagegen ist die Zunahme der Salicindrehung nach Zusatz von $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$ derart, dass angenommen werden kann, dass die in Versuch 1 beobachtete Zunahme der Drehung auf einer qualitativ gleichen, aber quantitativ verschiedenen Änderung des Lösungszustandes von Salicin bei Zusatz der genannten Salze beruht. Vergleicht man nun die Anfangsdrehung und die Grösse der während der Versuchsdauer beobachteten Drehungsänderung in Versuch 1, so ergibt sich, dass Zusatz von $CaCl_2$ eine stärkere Zunahme der Anfangsdrehung bewirkt als ein solcher von $MgCl_2$ und dass dem entsprechend Salicin durch Emulsin bei Zusatz von $CaCl_2$ stärker gespalten wird als bei einem solchen von $MgCl_2$, im übrigen aber sowohl $CaCl_2$ wie auch $MgCl_2$ ihrem Einfluss auf die Anfangsdrehung entsprechend den Spaltungsverlauf von Salicin gegenüber Aq. dest. fördern.

Versuch 2

Zusatz von 1,0 ccm einer m Lösung von $CaCl_2$ oder $MgCl_2$ zu 20,0 ccm der oben beschriebenen, mit Emulsin versetzten Salicinlösung von pH = 4,77. Die Konzentration an $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$ betrug also 0,0476 m.

Ansatz	Anfangs-drehung	Zunahme d. Drehungswinkels in Graden nach 1 St.	nach 2 St.	nach 3 St.	n. 20 St.
1	− 1,94	1,01	1,53	2,11	3,18
2	− 2,28	1,07	2,11	2,45	3,45
3	− 2,21	1,17	2,01	2,45	3,31
1	− 1,97	0,90	1,56	1,80	3,18
2	− 2,25	0,97	1,98	2,42	3,39
3	− 2,25	1,21	2,01	2,49	3,32

Auch bei dieser Konzentration an $CaCl_2$ und $MgCl_2$ ergaben sich bei der Anfangsdrehung erheblich höhere Werte für Ansatz 2 und 3. Wie aus der Tabelle hervorgeht, beobachteten

wir bei den Ablesungen für Calcium und auch für Magnesium eine fördernde Wirkung auf die Salicinspaltung, wobei $CaCl_2$ wieder etwas stärker förderte als $MgCl_2$.

Versuch 3.

Zusatz von 1,0 ccm einer 1/10 m Lösung von $CaCl_2$ oder $MgCl_2$ zu 20,0 ccm der oben beschriebenen, mit Emulsin versetzten Salicinlösung von pH = 4,77. Die Konzentration an $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$ betrug also 0,00476 m.

Ansatz	Anfangsdrehung	Zunahme d. Drehungswinkels in Graden nach 1 St.	nach 2 St.	nach 3 St.	n. 20 St.
1	– 2,04	0,94	1,91	2,04	3,25
2	– 2,28	0,98	1,96	2,69	3,35
3	– 2,35	1,14	2,04	2,52	3,56
1	– 2,08	0,98	1,77	2,25	3,36
2	– 2,35	1,04	1,87	2,83	3,63
3	– 2,25	1,11	1,84	2,66	3,49

Die bereits früher beobachtete fördernde Wirkung zeigte sich wieder, jedoch wirkte hier $MgCl_2$ in den ersten 1-2 Stunden stärker fördernd als $CaCl_2$, später $CaCl_2$ stärker als $MgCl_2$.

Versuch 4.

Zusatz von 1,0 ccm einer 1/100 m Lösung von $CaCl_2$ oder $MgCl_2$ zu 20,0 ccm der oben beschriebenen, mit Emulsin versetzten Salicinlösung von pH = 4,77. Die Konzentration an $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$ betrug also 0,000476 m.

Ansatz	Anfangs-drehung	Zunahme d. Drehungswinkels in Graden nach 1 St.	nach 2 St.	nach 3 St.	n. 20 St.
1	– 2.11	0.80	1.49	1.80	3.28
2	– 2.25	0.83	1.60	1.86	3.32
3	– 2.39	0.97	1.67	2.22	3.43
1	– 2.11	0.90	1.60	1.94	3.25
2	– 2.25	0.97	1.63	2.21	3.35
3	– 2.42	1.04	1.80	2.32	3.46

In der vorstehend genannten Konzentration haben sich die in den früheren Versuchen beobachteten Verhältnisse deutlich umgekehrt: zwar förderte sowohl $CaCl_2$- wie auch $MgCl_2$- Zusatz, letzterer jedoch deutlich stärker als ersterer. Diesem Befund entspricht auch, dass hier die Anfangsdrehung durch $MgCl_2$ stärker vergrössert wird als durch $CaCl_2$.

Versuch 5.

Zusatz von 1,0 ccm einer $^1/_{500}$ m Lösung von $CaCl_2$ oder $MgCl_2$ zu 20,0 ccm der oben beschriebenen, mit Emulsin versetzten Salicinlösung von pH = 4,77. Die Konzentration an $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$ betrug also 0,0000952 m.

Ansatz	Anfangs-drehung	Zunahme des Drehungswinkels in Graden nach 1 St.	nach 2 St.	nach 4 St.	n. 20 St.
1	– 2,11	0,97	1,49	2,59	3,15
2	– 2,32	0,94	1,56	2,49	3,36
3	– 2,18	0,83	1,46	2,49	3,22
1	– 2,08	0,91	1,43	2,56	3,18
2	– 2,28	0,90	1,49	2,45	3,35
3	– 2,25	0,87	1,49	2,56	3,29

Entsprechend der Art der Beeinflussung der Anfangsdrehung wirkten sowohl $CaCl_2$ wie auch $MgCl_2$ fördernd, ersteres stärker als letzteres. In den ersten 4 Stunden der Versuchsdauer treten diese Verhältnisse indessen noch nicht in Erscheinung, sondern es scheinen sowohl $CaCl_2$ wie auch $MgCl_2$ hemmend zu wirken, letzteres stärker als ersteres.

Versuch 6.

Zusatz von 1,0 ccm einer $^1/1000$ m Lösung von $CaCl_2$ oder $MgCl_2$ zu 20,0 ccm der oben beschriebenen, mit Emulsin versetzten Salicinlösung von pH = 4,77. Die Konzentration an $CaCl_2$ bezw. $MgCl_2$ betrug also 0,0000476 m.

Ansatz	Anfangs-drehung	Zunahme des Drehungswinkels in Graden nach 1 St.	nach 2 St.	nach 3 St.	n. 20 St.
1	− 2,11	0,80	1,46	2,01	3,28
2	− 2,42	0,93	1,59	2,11	3,66
3	− 2,25	0,86	1,56	2,08	3,42
1	− 2,08	0,70	1,32	1,91	3,39
2	− 2,42	0,86	1,70	2,11	3,66
3	− 2,28	0,79	1,52	1,97	3,49

In 0,0000476 m Konzentration zeigten $CaCl_2$ und $MgCl_2$ wieder die in dem Versuch 1 beobachteten Wirkungen: $CaCl_2$ und $MgCl_2$ vergrösserten die Anfangsdrehung, ersteres stärker als letzteres; dem entsprechend wirkte ersteres auch stärker fördernd auf die Salicinspaltung als letzteres.

Zusammenfassung.

1) Der Einfluss des Zusatzes von äquimolaren Lösungen von $CaCl_2$ und $MgCl_2$ in verschiedenen Konzentrationen auf den Verlauf der Spaltung von Gelatine durch Trypsin sowie auf den Ablauf der Spaltung von Salicin durch Emulsin wurden untersucht.
2) Die Spaltung von Gelatine durch Trypsin wird durch Zusatz von Calcium- oder Magnesiumchlorid in höherer Konzentration entweder fast völlig aufgehoben oder mehr oder weniger stark hemmend beeinflusst, während niedrigere Konzentrationen eher eine Förderung verursachen oder zumindest ohne nennenswerten Einfluss auf den Spaltungsvorgang bleiben.
3) Die Spaltung von Salicin durch Emulsin wird durch Zusatz von Calcium- oder Magnesiumchlorid in Konzentrationen von 5 m bis $^1/100$ m fördernd, in einer Konzentration von $^1/500$ m scheinbar hemmend beeinflusst. In 0,0000476 m Konzentration tritt eher wieder Förderung des Spaltungsverlaufes auf.

Literatur.

1) Podolinski: Inaug. Diss. Breslau 1876

2) Délezenne: C. R. Bd. 141, S. 781 u. 914 (1905) u. Bd. 144, S. 388 u. 506 (1907)

3) Zunz: Bull. de la Soc. Roy. des Sciennes méd. et nat. de Bruxelles Bd. 64, S. 28 u. 98 (1906); Annales de la Soc. Roy. des Sciennes méd. et nat. de Bruxelles Bd. 16, S. 63 (1907)

4) Meyer: Biochem. Zs. Bd. 23 S. 68 (1909/10)

5) Wohlgemuth: Biochem. Zs. Bd. 39, S. 302 (1912)

6) Frouin u. Compton: C. R. Bd. 153, S. 1032 (1911)

7) Mellanby u. Woolley: J. of Physiol. Bd. 46 S. 159 (1913)

8) Waldschmidt-Leitz: Hoppe-Seylers Zs. f. physiol. Chemie, Bd. 132, S. 181 (1924)

9) Kudo: Biochem. Zs. 15, S. 473 (1909)

10) Linderström-Lang: Zs. f. physiolog. Chem. Bd. 173, S. 323 (1928)

11) Hérissey: Recherches sur l'Émulsine, Thèse, S. 6, Paris 1899.

12) Wohlgemuth: Grundriss d. Fermentmethoden, S. 84 (1913

13) Rosenthaler: Biochem. Zs. 14, 238 (1908)

14) Bull, B. W.: Liebigs Ann. d. Chemie 69, 145 (1849)

15) Willstätter u. Czanyi: Hoppe-Seyler 117, 172 (1921)

16) Vulquin: Soc. Biol. 70, 270 u. 763 (1911)

17) Wohlgemuth: Grundriss d. Fermentmeth. S. 84 (1913)

18) Waldschmitz-Leitz und Schäffner: Zs. f. physiol. Chem. Bd. 151, 31 (1925)

19) Dernby: Biochem. Zs. 81, 107 (1917)

20) H. A. Oelkers: Biochem. Zs. 226, 185 (1930)

21) Nelle: Inaug. Diss. Rostock (1931)

22) Meyer: Inaug. Diss. Rostock (1931)

23) Helferich: Zs. f. physiol. Chem. Bd. 117, S. 159 (1921)

24) Landolt: Das opt. Drehungsvermögen, S. 192 (1898)

25) " : l. c. S. 198

26) Walden: Z. physik. Chem. 15, 205.

27) Landolt: l. c. S. 216

28) Vlès und Vellinger: Cpt. rend. hebd. des séances 180, 439 (1925)

29) Liquier: Cpt. rend. hebd. des séances 180, 1917 (1925)

30) Vellinger: ibid. 182 1625, 1

31) Long: Americ. journ. chem. soc. 36, 353 (1888)

32) Stubbs: Journ. chem. soc. 99, (1911)

33) Patterson und Anderson: Journ. chem. soc. 101, 1834 (1912)

34) Chough: Journ. chem. soc. Bd. 105 u. 107

35) de Mallemann: J. de Physique 4, 18 (1923)

36) Darmois: Ann. chim. physique 22, 247 (1911); Ann de physique 10, 70 (1928); Transact. of the Faradey Soc. 26, 384 (1930)

37) Bjerrum: Kgl. D. Vidsk. Medd. 7, 9 (1926)

38) Halban und Eisenbrand: Zs. physik. Chem. 132, 401, 433 (1928)

39) Oppenheimer: Die Fermente u. ihre Wirkungen Bd. I, 233 1913

Lebenslauf

Ich, Carl Zeumer, wurde als Sohn des Kaufmanns Hermann Zeumer und seiner Ehefrau Helene, geb. Lohmann am 11. März 1900 in Gerbstedt (Mansfelder Seekreis) geboren, besuchte bis zu meinem 10. Lebensjahr die dortige Bürgerschule und wurde dann in die Sexta des Stadtgymnasiums zu Halle a. d. S. aufgenommen. Nach meiner Versetzung in die Untersekunda ging ich zur Lateinischen Hauptschule der Francke'schen Stiftungen, daselbst, über, welche ich mit dem Reifezeugnis für Oberprima verliess, um der Einberufung zum Heeresdienst Folge zu leisten. Nach Beendigung des Krieges erhielt ich nach Teilnahme an einem Kriegsteilnehmerkurse das Reifezeugnis und war dann bis zu Beginn des Jahres 1927 im Bankfach tätig. Im S. S. 1927 begann ich das Studium der Zahnheilkunde an der Universität Rostock, bestand nach drei Semestern mein Physikum und nach vier weiteren klinischen Semestern mein Staatsexamen, um dann gleich anschliessend meine Doktorarbeit in Angriff zu nehmen.